

А. Кац, О. Э. Грег // Международный вестник ветеринарии. –2020. –№4. –С.24-30.
7.Ryan, U. New developments in cryptosporidium reseach / U. Ryan, N. Hjjawi // International Journal for Parasitology. –2015. – Vol. 45(6). – P. 367-373.
8.Nasir, A. Treating Cryptosporidium parvum infection in calves / A. Nasir, M. Avais, M.S. Khan [et al.] //J. Parasitol. –2013. – 99 (4). – P. 715.
9.Masood, S. Anti-Cryptosporidium Activity

of Albendazole, Metronidazole and Paromomycin in Experimentally Infected Cattle Pakistan / S. Masood, A. Maqbool, U. J. Khan [et al.] // J. Zool. –2013. – vol. 45(4) . – P. 935-940.

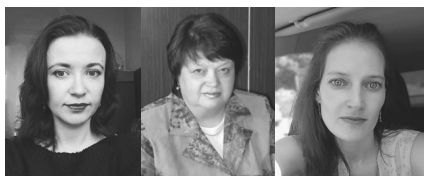
10.Simone, M. A rare Cryptosporidium parvum genotype associated with infection of lamb and zoonotic transmission in Italy / M. Simone, A. Cacciò [et al.]// Vet. Parasitol. –2013. –vol. 16, 191(1). – P. 128–131.

УДК 619:616.99:636.92(471.41)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.1.18

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ С МИКРОЯДРАМИ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ СПОНТАННОМ КОКЦИДИОЗЕ

И.В. Петрова – к.в.н, ст. науч.сотр. отдела биотехнологии, А.Н. Семикрасова – к.б.н., вед.науч. сотр. отдела биотехнологии, К.В. Жилина – аспирант, мл.науч. сотр. отдела биотехнологии; ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»

Ключевые слова: кролик, микроядра, эритроцит, кокцидиоз, ооцисты эймерий, интенсивность инвазии. **Key words:** rabbit, micronucleus, erythrocyte, coccidiosis, eimerian oocysts, intensity of invasion.



РЕФЕРАТ

Кокцидиоз является самым распространенным заболеванием кроликов, являющийся причиной большого экономического ущерба в кролиководстве. Целью настоящей работы явилось изучение влияния кокцидий на показатели микроядерного теста, так как в литературных источниках авторам не встречались данные о изучении мутагенного действия метаболитов эймерий на хромосомный аппарат соматических клеток кроликов.

Для проведения опыта было сформировано 4 группы кроликов по 10 голов в каждой, с высокой, средней, низкой интенсивностью инвазии (ИИ) ооцистами кокцидий и здоровые животные. У подопытных и контрольных кроликов производили забор крови из краевой ушной вены, приготовили мазки и окрашивали красителем Гимза. Для проведения микроядерного теста проводили микроскопию препаратов крови и подсчитывали частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами. Установлено, что у кроликов с низкой ИИ частота встречаемости эритроцитов с микроядрами составляла $1,49 \pm 0,10$, что в 1,6 раза превышало показатель контрольной группы ($p < 0,001$). У группы кроликов со средней ИИ частота появления эритроцитов с микроядрами была в 2,3 раз больше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$) и составляла $2,15 \pm 0,09$. Частота встречаемости эритроцитов с микроядрами группы с высокой ИИ превышала контрольный показатель в 3,1 раза и составила $2,88 \pm 0,13$ %.

По результатам проведенных лабораторных исследований установлено, что изменение частот встречаемости эритроцитов с микроядрами в периферической крови кроликов зависит от степени инвазии эймериями, доказывая тем самым мутагенное действие метаболитов эймерий на хромосомный аппарат соматических клеток хозяина.

ВВЕДЕНИЕ

Эймериоз (кокцидиоз) - самая распространенная болезнь кроликов и причиняет большой экономический ущерб. На сегодняшний день хорошо исследовано патогенное действие кокцидий на организм хозяина [1,2,3]. Сведения о мутагенном действии метаболитов эймерий на хромосомный аппарат соматических клеток кроликов в литературных источниках нам не встречались.

Современные исследования указывают на влияние биологических факторов на индукцию мутаций [4,5], в частности, на это указывает изучение влияния метаболитов гельминтов на геном в тесте Эймса [6]. Научно доказано, что мутагенным воздействием на генетический аппарат хозяина обладают метаболиты различных гельминтов [7,8]. Специфичность повреждения хромосомного набора обусловлена генотоксинами паразитов.

Микроядерный тест (МЯТ) получил широкое применение для определения мутагенного действия факторов окружающей среды [9] и рекомендован Международным агентством защиты окружающей среды, как один из высокочувствительных методов выявления канцерогенов и мутагенов [10].

В связи с этим, определение возможности индукции мутагенеза секреторно-экскреторно-соматическими продуктами паразитов составляет особый интерес. Проведение исследований в этом направ-

лении является актуальным и имеет теоретическое и практическое значение.

Цель исследований: изучение влияния кокцидий на показатели микроядерного теста у кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в ФГБНУ НИИПЗК. Объектом исследования служили кролики. Выявление ооцист кокцидий проводили согласно Методическим указаниям по лабораторной диагностике эймериозов животных, интенсивность инвазии (ИИ) определяли в 1 грамме фекалий [11]. В зависимости от ИИ сформировано 4 группы подопытных кроликов, по 10 голов в каждой (таблица 1). Для выявления частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами выполнен МЯТ. Для этого у кроликов проведен забор крови из краевой ушной вены. При приготовлении мазков на предметном стекле каплю периферической крови смешивали с каплей физиологического раствора, равномерно распределяли, высушивали, фиксировали метиловым спиртом в течение 30 минут и окрашивали красителем Гимза. Число эритроцитов с микроядрами определялось для 3000 клеток и выражалось в расчете на 1000 клеток в промилле (‰). Исследование препаратов проведено под бинокулярным микроскопом Nicon со встроенным цифровым фотоаппаратом (увеличение x1000) [4].

Полученный в опытах цифровой материал обрабатывали статистически [12], с

Таблица 1

Группы подопытных кроликов

Группы кроликов	Интенсивность инвазии, /г фекалий	Кол-во голов
1 группа	Низкая (до 10 000)	10
2 группа	Средняя (10 000 – 100 000)	10
3 группа	Высокая (свыше 100 000)	10
4 группа (контроль)	Клинически здоровые	10

Таблица 2

Результаты МЯТ, ‰ (M±m, n=10)

Группы кроликов	Результат МЯТ, ‰
1 группа	1,49±0,10***
2 группа	2,15±0,09***
3 группа	2,88±0,13***
4 группа (контроль)	0,92±0,08

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

применением компьютерной программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ препаратов показал, что эритроциты с микроядрами в периферической крови кроликов появляются с разной частотой у разных групп подопытных животных (таблица 2). Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

При анализе препаратов крови контрольной группы кроликов установлено, что частота встречаемости эритроцитов с микроядрами составила 0,92±0,08 ‰ (таблица 2).

У кроликов 1 группы установлено, что частота встречаемости эритроцитов с микроядрами составляла 1,49±0,10, что в 1,6 раза превышало показатель контрольной группы ($p < 0,001$).

При исследовании периферической крови подопытных животных второй группы установлено, что частота появления эритроцитов с микроядрами была в 2,3 раз больше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$) и составляла 2,15±0,09.

Частота эритроцитов с микроядрами 3-й группы превышала контрольный показатель в 3,1 раза и составила 2,88±0,13 ‰.

ВЫВОДЫ

Анализ полученных данных позволяет заключить, что частота встречаемости эритроцитов с микроядрами в периферической крови кроликов увеличивается от степени контаминации эймериями. Микроядерный тест можно применять как один из критериев при диагностике протозойных инвазий у кроликов. Увеличение частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами в периферической крови кроликов в высокой степени инвазии эймериями может свидетельствовать о

влиянии генотоксинов паразитов на грубые нарушения в митозе.

RATE OF DETECTION OF ERYTHROCYTES WITH MICRONUCLEI IN PERIPHERAL BLOOD OF RABBITS IN SPONTANEOUS COCCIDIOSIS. I.V. Petrova - Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Biotechnology Department, A.N. Semikrasova - Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Biotechnology, K.V. Zhilina - Postgraduate Student, Junior Researcher, Biotechnology Department. Federal State Budget Scientific Institute «Scientific Research Institute of Fur - Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V.A. Afanas'ev».

ABSTRACT

Coccidiosis is the most common disease in rabbits, causing great economic damage in rabbit farming. The aim of this work was to study the effect of coccidia on the parameters of the micronucleus test, since the authors did not come across data on the study of the mutagenic effect of eimeria metabolites on the chromosomal apparatus of somatic cells in rabbits in the literature. For the experiment, 4 groups of rabbits, 10 heads each, with high, medium, low intensity of invasion (II) by oocysts of coccidia and healthy animals were formed. In experimental and control rabbits, blood was taken from the marginal ear vein, smears were prepared and stained with Giemsa dye. To carry out the micronucleus test, microscopy of blood preparations was performed and the frequency of occurrence of erythrocytes with micronuclei was calculated. It was found that in rabbits with low IS, the frequency of occurrence of erythrocytes with

micronuclei was 1.49 ± 0.10 , which was 1.6 times higher than that of the control group ($p < 0.001$). In the group of rabbits with medium IS, the frequency of appearance of erythrocytes with micronuclei was 2.3 times higher than in the control group ($p < 0.001$) and was 2.15 ± 0.09 . The frequency of occurrence of erythrocytes with micronuclei in the group with high IS exceeded the control indicator by 3.1 times and amounted to $2.88 \pm 0.13\%$.

According to the results of laboratory studies, it was found that the change in the frequency of occurrence of erythrocytes with micronuclei in the peripheral blood of rabbits depends on the degree of invasion by eimeria, thereby proving the mutagenic effect of eimeria metabolites on the chromosomal apparatus of the host somatic cells.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Рютова В.П. // Болезни кроликов. – М.: Россельхозиздат, 1985. – 124с.
- 2.Майоров А.И., Василевич Ф.И., Квартникова Е.Г., Семикрасова А.Н. // Основные болезни кроликов. – М.: ЗооВетКнига, 2014. – 166с.
- 3.Петрова И.В., Семикрасова А.Н., Гришина Л.Е., Косовский Г.Ю. Сравнение неспецифической резистентности молодняка гибридного кролика и исходных пород // Кролиководство и звероводство. 2018. - №1. – С. 25-27.
- 4.Глазко Т.Т., Столповский Ю.А., Глазко В.И. // Генотипические и паратипические факторы, влияющие на результаты микроядерного теста. – Сельскохозяйственная биология. – 2010. - №6. – с.30-34.
- 5.Косовский Г.Ю. // Клеточные и геномные технологии в повышении эффективности животноводства. – М.:Новые печатные технологии, 2015. – с.46-57.
- 6.Винярская А.В. Исследование мутагенного действия в тесте Эймса. В: материалы докладов науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» – 2011. – Вып. 12. – С. 102–105.
- 7.Бекиш В.Я., Бекиш О.-Я. Л. Механизмы генотоксических эффектов в соматических и генеративных клетках хозяина при гельминтозах – В: Вестник ВГМУ., 2005. – С. 73–79.
- 8.Наличник Х.Я. // Частота выявления микроядер в эритроцитах периферической крови норки при спонтанном эймериозе. – Международный научный симпозиум " современное сельское хозяйство: достижения и перспективы", посвященный 80-летию создания государственного аграрного университета Молдовы. – Молдова. – 2019. - с.223-226.
- 9.Fenech M. The Human MicroNucleus Project — An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. In: Mutat. Res. Fund, and Mol. Mech. Of Mutagen. — 1999. — Vol. 428. — P. 271–283.
- 10.Cimino M. C. New micronucleus guideline for the U.S. environmental protection agency. U.S. EA, office of Toxic Substances, Health and Environmental Review Division, Washington DC. In: Mutat. Res. Envir. Mol. Mutagen. – 1991. – Vol. 17. –Suppl.19.–P.83.
- 11.Методические указания Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия РФ от 5 июня 2000 г. № 13-7-2/2045 «Методические указания по лабораторной диагностике эймериозов животных».
- 12.Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высш.школа. – 1990. – 352 с.